m/s MINI-SYNTHÈSE

médecine/sciences 1997 ; 13 : 83-8

Contrôles peptidiques

Le monde peptidique est fascinant. Avant même l'invention par l'évolution des hormones, des anticorps et des neurotransmetteurs, des peptides multiples assuraient des fonctions de communication, de contrôle et de défense. Aujourd'hui, on observe que les messages et les effecteurs peptidiques n'ont rien perdu de leur importance dans le contrôle de l'homéostasie des vertébrés, jusqu'aux mammifères. Alors que les facteurs peptidiques de croissance sont bien connus, c'est aux inhibiteurs de la croissance cellulaire, aux inducteurs d'apoptose et à leur mode d'action que sont consacrés de nombreux travaux récents : TGFβ et ses semblables, TNF et autres molécules sont reconnus aujourd'hui comme jouant des rôles essentiels, notamment dans la morphogenèse et la tumorigenèse. L'intestin, comme le système nerveux central, est une source particulièrement riche de messagers peptidiques. Ceux appartenant à la nouvelle famille des peptides en feuille de trèfle jouent un rôle dans la différenciation, la prolifération et la protection des muqueuses digestives. La fonction de tous ces peptides est abordée par des expériences d'apport de molécules exogènes. Cependant, les résultats des expériences plus récentes d'invalidations géniques par recombinaison homologue réservent souvent des surprises quant au rôle réel de ces familles de messagers et d'effecteurs.

Avancées et perspectives de la recherche sur le facteur de nécrose tumorale (TNF)

Depuis sa découverte, le TNF *(tumor necrosis factor)* fait l'objet d'un double intérêt. En 1984, il était caractérisé et son gène cloné sur la base de ses propriétés antitumorales, d'où son nom actuel [1]. Indépendamment de ce travail, il était également décrit en 1985 sous le nom de cachectine, en référence aux propriétés cachectiques de cette molécule, c'est-à-dire sa capacité d'induire l'amaigrissement [2]. Peu après, le rôle majeur joué par la cachectine dans les processus inflammatoires était reconnu [3]. Aujourd'hui, bien que l'on sache que le TNF et la cachectine sont une seule et même molécule [4], ses propriétés biologiques distinctes définissent les deux axes de recherche actuels dont il fait l'objet. Le premier cherche à comprendre l'action inflammatoire du TNF et à mieux la contrôler. Le second concerne les mécanismes responsables de son action antitumorale, et en particulier la voie de transduction des signaux transmis après la fixation du TNF sur ses récepteurs, et qui conduit à la cytolyse. Le succès de ces travaux pourrait permettre de réorienter la réponse au TNF, afin de pouvoir exploiter la capacité antitumorale de la molécule dans des conditions où son action inflammatoire pourrait être maîtrisée.

Compte rendu du 6ᵉ congrès sur le TNF et les molécules apparentées (Rhodes, Grèce).
Cet article n'est qu'une représentation partielle de l'ensemble des résultats présentés lors du 6ᵉ Congrès sur le TNF et les molécules apparentées. Nous nous excusons auprès des conférenciers dont les travaux n'ont pu être repris ci-dessus par manque de place.

Les résultats obtenus au cours des deux dernières années dans chacun de ces deux axes de recherche ont été longuement commentés lors du 6ᵉ congrès sur le TNF et les molécules apparentées, qui s'est déroulé sur l'île de Rhodes, en Grèce, du 8 au 12 mai 1996.

TNF et mécanismes inflammatoires

Le rôle central joué par le TNF dans la mise en place et le contrôle de l'inflammation est clairement mis en évidence par l'existence de nombreuses situations pathologiques de type inflammatoire associées à un dérèglement de la production du TNF. Parmi celles-ci, le choc septique, l'arthrite rhumatoïde, le paludisme cérébral ou la sclérose en plaque sont les plus répandues.
Le TNF peut exister sous deux formes: une molécule transmembranaire (TNFm) de 26 kDa et une forme soluble (TNFs) de 17 kDa obtenue par clivage protéolytique de la première. Ces molécules peuvent être reconnues par deux types de récepteurs cellulaires: un récepteur de 60 kDa, ou récepteur de type I, et un récepteur de 80 kDa, ou récepteur de type II. Bien que l'existence de la forme membranaire du TNF fût décrite il y a plusieurs années déjà et qu'une capacité cytolytique propre lui eût été attribuée [5], la majorité des effets biologiques décrits pour le TNF concernaient jusqu'à présent la forme soluble de 17 kDa. Le travail de Matthias Grell et Klaus Pfizenmaier (Stuttgart, Allemagne) a mis en évidence des affinités différentes des formes soluble et membranaire pour l'un ou l'autre des deux types

de récepteurs. En effet, si le TNF soluble se fixe préférentiellement sur le récepteur de type I, la forme membranaire, quant à elle, reconnaît avec une meilleure affinité le récepteur de type II *(figure 1)*. Cette découverte élargit le champ d'action physiologique possible du TNF, et suggère notamment un rôle de la forme membranaire dans des réactions inflammatoires locales [6], rôle récemment confirmé par l'équipe de George Kollias (Athènes, Grèce). Celle-ci a, en effet, réussi à montrer que des souris transgéniques qui surexpriment le TNF membranaire, mais sans produire de TNF soluble, possèdent une susceptibilité accrue à développer de l'arthrite, susceptibilité aussi élevée que celle de souris surexprimant la forme soluble.

Une partie du mécanisme de clivage du TNF membranaire en sa forme soluble est également mieux comprise grâce aux recherches indépendantes de Roy Black (Seattle, WA, USA) et Marcia Moss (Caroline du Nord, USA), qui rapportent le clonage d'une nouvelle enzyme transmembranaire baptisée TACE *(TNF-α converting enzyme)* capable de cliver spécifiquement le TNF membranaire *(figure 1)*. La présence d'un domaine intracytoplasmique de cette enzyme suggère l'existence d'une régulation de son activité qui pourrait constituer un nouveau point de contrôle physiologique de la production de TNF.

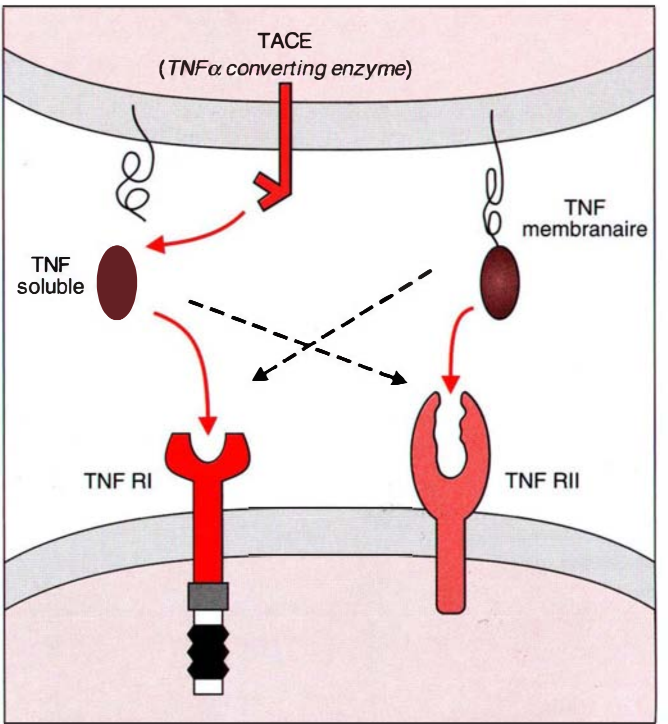


Figure 1. ***Spécificité de la reconnaissance des formes soluble et membranaire du TNF par les récepteurs TNF de type I et II.*** *Le TNF membranaire est reconnu préférentiellement par le récepteur TNF de type II (TNFRII, p75). Il peut être clivé par l'enzyme membranaire TACE* (TNFα converting enzyme) *pour libérer la forme soluble du TNF, qui possède alors une affinité plus grande pour le récepteur TNF de type I (TNFRI, P55).*

Dans une perspective thérapeutique de blocage de la production du TNF, d'autres résultats fondamentaux ont été obtenus sur les mécanismes inflammatoires induits par le TNF. Ainsi, le groupe de John Lee (King of Prussia, PA, USA) a montré que le composé nommé SB203580 est capable d'inhiber la production de TNF en réponse à différents inducteurs en bloquant l'activité kinase d'une enzyme appelée SAPK-2 *(stress-activated protein kinase)* et qui semble être impliquée dans l'activation de la traduction de l'ARN messager codant pour le TNF *(m/s n° 3, vol. 11, p. 467)* [7]. De plus, les travaux de l'équipe de Walter Fiers (Gand, Belgique) viennent de confirmer cette action anti-inflammatoire du SB203580 en montrant que la production d'interleukine-6 induite par le TNF peut être inhibée par cette molécule [8]. Ces résultats renforcent l'intérêt pour SB203580 qui, plus qu'un inhibiteur de la production de TNF, semble constituer un agent bloquant d'une voie de transduction plus générale et pro-inflammatoire, ce qui rend prometteuse l'utilisation de ce composé dans différentes pathologies inflammatoires. D'après John Lee, les premiers essais cliniques sont « planifiés dans un futur proche ».

La compréhension des mécanismes d'action du TNF doit également beaucoup à l'utilisation de souris transgéniques et de souris chez lesquelles des gènes ont été invalidés (souris *knock out*). Ainsi, l'équipe de Georges Grau (Genève, Suisse) a pu montrer que des souris portant une délétion du gène codant pour le récepteur TNF de type II sont protégées de la mortalité associée au paludisme cérébral, alors que celles portant une délétion du gène du récepteur de type I restent sensibles à la maladie. Ces résultats permettent d'envisager un rôle prépondérant du TNF membranaire dans la malaria cérébrale puisque celui-ci semble être le ligand préférentiel du récepteur de type II. La confirmation de ces hypothèses devrait permettre d'aboutir à des approches thérapeutiques appropriées pour le traitement de cette maladie. En effet, l'utilisation d'inhibiteurs de la sécrétion de TNF, comme cela est testé sur d'autres maladies avec des inhibiteurs de métalloprotéases, pourrait s'avérer inefficace, puisque l'expression du TNF membranaire ne serait pas ici inhibée. Néanmoins, des effets bénéfiques pourraient sans doute être obtenus, par exemple, par une inhibition plus précoce de la production de TNF (au niveau de la transcription, de la traduction ou du transport intracellulaire), ou par la neutralisation spécifique du récepteur de type II. L'avantage de cette dernière approche serait de préserver les fonctions du récepteur de type I.

L'utilisation de souris transgéniques a également permis de mettre en évidence un rôle du TNF et de la lymphotoxine α et β dans l'ontogenèse des organes lymphoïdes. Cependant, les mécanismes impliqués dans ce contrôle du développement embryonnaire par ces deux molécules restent inconnus à ce jour [9].

Applications cliniques et perspectives de traitements

L'implication très importante du TNF dans les maladies d'origine inflammatoire confère un intérêt primordial aux recherches cliniques sur cette molécule *(Tableau I)*.
Pour la maladie de Crohn par exemple, des données très importantes ont été obtenues par Van Deventer (Amsterdam, Pays-Bas). Cette maladie grave qui touche les intestins se traduit par une inflammation au niveau de l'intestin grêle ou du gros intestin, par la formation de granulomes, par une activation anormale des lymphocytes $CD4^+$, et conduit très souvent à des complications extra-intestinales telles que arthrites ou uvéites [10]. L'utilisation d'un modèle de souris histopathologiquement comparable à la maladie de Crohn chez l'homme *(m/s n° 12, vol. 9, p. 1426)* a permis de démontrer qu'en bloquant l'expression de cytokines pro-inflammatoires, comme l'interféron-γ ou le TNF, ou en injectant des cytokines anti-inflammatoires, comme l'interleukine-10, l'activité pathologique des lymphocytes T responsables de l'inflammation est significativement diminuée. Appliquée à l'homme, cette expérience a donné des résultats remarquables chez dix patients atteints d'une forme aiguë de la maladie de Crohn et qui ne répondaient positivement à aucun traitement immunosuppresseur standard utilisant des stéroïdes. Après quatre semaines de traitement, l'injection d'anticorps anti-TNF chez ces malades a induit une rémission rapide de la maladie et la cicatrisation des ulcérations intestinales chez huit d'entre eux. Les résultats obtenus sont en cours de réévaluation dans le cadre d'une étude clinique plus large, mais ces données indiquent d'ores et déjà l'intérêt probable d'administrer des anticorps anti-TNF ou de l'interleukine-10 recombinante humaine (dont l'utilisation a également donné des résultats encourageants) pour réduire les symptômes de la maladie de Crohn chez des patients réfractaires à tout autre traitement [11].
L'injection d'anticorps anti-TNF à visée anti-inflammatoire peut cependant donner des résultats décevants. Dans le cas du choc septique par exemple, dont le TNF est l'un des principaux médiateurs endogènes, les médecins ont eu l'occasion de constater que certains patients répondaient positivement à l'injection d'anticorps anti-TNF, tandis que pour d'autres ce traitement se montrait inefficace. Dans le but de mieux définir les groupes de patients chez lesquels l'injection d'anticorps anti-TNF en prévention du choc septique serait bénéfique *(m/s n° 3, vol. 4, p. 198)*, Martin Kaul (Ludwigshafen, Allemagne) a étudié l'intérêt d'une nouvelle méthode de diagnostic, fondée sur l'hypothèse que ce n'est pas une seule cytokine qui est à l'origine du choc septique, mais un réseau complexe de plusieurs cytokines, et que seuls certains sous-groupes de patients bénéficieraient de la neutralisation du TNF. Martin Kaul a constaté que seuls les malades avec une concentration sérique d'interleukine-6 supérieure à 1 000 pg/ml répondent positivement à l'injection d'anticorps anti-TNF. Mesurer les concentrations sériques d'interleukine-6 pourrait donc être un mar-

Tableau I

LES THÉRAPIES EN COURS OU ENVISAGÉES POUR LES AFFECTIONS INFLAMMATOIRES IMPLIQUANT LE TNF

Affection inflammatoire impliquant le TNF	Évaluations cliniques en cours	Thérapies envisagées
Choc septique	• Anticorps anti-TNF après contrôle du taux d'IL-6 circulante (M. Kaul, Knoll AG, Ludwigshafen, Allemagne) • Molécule chimérique Ig/récepteur TNF-RI (W. Lesslauer, Hoffmann-La Roche, Bâle, Suisse et A. Leighton, Hoffmann-La Roche, Little Falls, États-Unis)	• SB203580 (analogue d'imidazole capable de bloquer la production de TNF) (J. Lee, SmithKline Beecham, King of Prussia, PA, États-Unis) Envisagé également pour le traitement d'autres affections inflammatoires
Maladie de Crohn	• Anticorps anti-TNF ou IL-10 recombinante humaine (R. Van Deventer, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas)	
Sclérose en plaque		• Molécule chimérique Ig/récepteur TNF-RI (W. Klinkert, MPI for Psychiatry, Martinsried, Allemagne)
Arthrite rhumatoïde	• Anticorps anti-TNF (M. Feldmann, Kennedy Institute of Rheumatology, Londres, GB)	• Molécule chimérique Ig/récepteur TNF-RI (M. Feldmann)

queur intéressant, hypothèse testée actuellement dans deux essais cliniques.

Comme pour la maladie de Crohn, les anticorps anti-TNF se sont révélés efficaces pour le traitement de l'arthrite rhumatoïde. Le groupe de Mark Feldmann (Londres, GB) a pu montrer que l'injection de doses élevées d'anticorps était bien tolérée par les patients, et diminuait fortement l'intensité des crises. Ce type de traitement présente cependant deux désavantages. D'une part, le traitement n'est que palliatif, car l'évolution de la maladie n'est pas bloquée. La douleur sera mieux supportée par le patient, mais les crises n'en seront pas moins fréquentes. D'autre part, on peut penser que l'efficacité du traitement diminuera avec le temps, le patient pouvant développer une réponse immunitaire contre les anticorps anti-TNF injectés. Pour pallier ces désavantages, une alternative plus appropriée pourrait être trouvée dans l'utilisation de molécules chimériques produites par la fusion entre le domaine extracellulaire d'un des récepteurs du TNF et une chaîne lourde d'immunoglobuline. Cette approche semble avoir différents avantages par rapport au traitement anti-TNF classique, par anticorps. Tout d'abord, l'affinité pour le TNF de la partie récepteur de la chimère est plus élevée que celle d'un anticorps anti-TNF, ce qui permet d'espérer une neutralisation plus efficace *in vivo*. Ensuite, la molécule hybride est constituée de deux fragments non immunogènes, son immunogénicité sera donc réduite par rapport à des anticorps anti-TNF, même dans le cas où ceux-ci ont été humanisés. Enfin, troisième avantage, ces molécules sont non seulement capables de neutraliser le TNF, mais également la lymphotoxine α, tous deux reconnaissant, *in vivo*, le même récepteur. Le potentiel anti-inflammatoire de ces molécules hybrides n'en est donc que plus grand.

D'ores et déjà, l'utilisation de ces chimères a donné des résultats intéressants. D'une part, la molécule de fusion Ig-récepteur TNF est capable de diminuer considérablement les symptômes de l'encéphalomyélite allergique expérimentale chez le rat

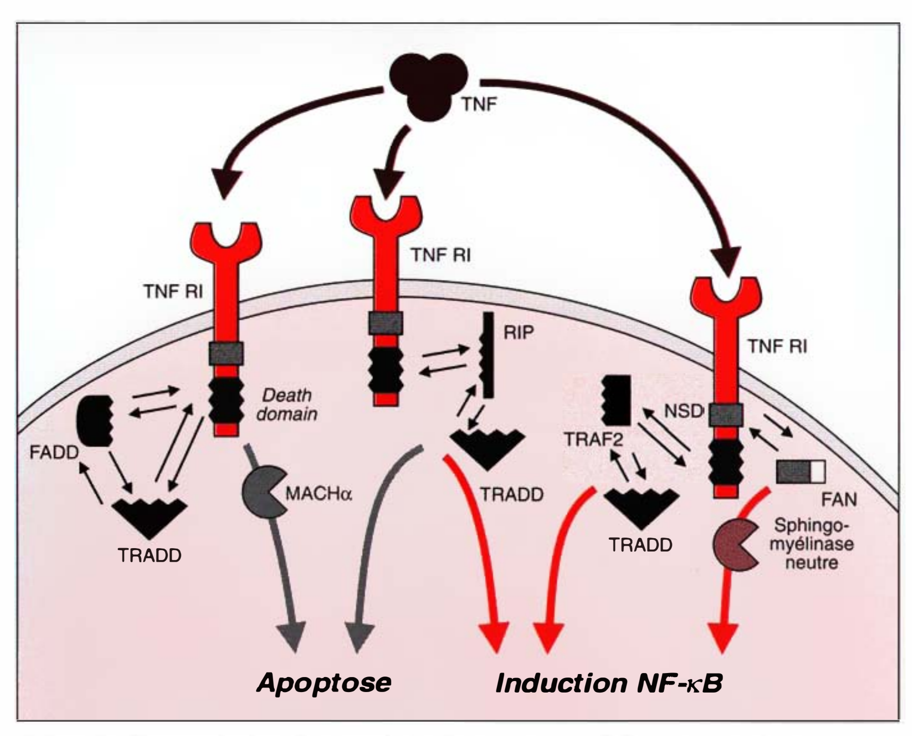


Figure 2. ***Transmission du signal par le récepteur TNF de type I.*** *La liaison du TNF soluble sur le récepteur TNF de type I induit le recrutement de différents facteurs protéiques sur les domaines cytoplasmiques du récepteur. La combinaison des protéines recrutées sur le* death domain *permet de transmettre un signal conduisant, soit à l'apoptose, soit à l'induction du facteur de transcription NF-κB, caractéristique de la réponse inflammatoire. La protéine FAN recrutée sur le domaine NSD conduit à l'induction de NF-κB sans induire l'apoptose. TRADD:* TNF receptor associated death domain protein*; FADD:* Fas-associated death domain protein*; RIP:* receptor interacting protein*; MACH:* MORT-1-associated CED-3 homolog*; NSD:* neutral sphingomyelinase activation domain*; FAN:* factor associated with N-sphingomyelinase activation.

(Wolfgang Klinkert, Martinsried, Allemagne). Cette maladie est d'une grande importance expérimentale, car on la considère comme un bon modèle animal de la sclérose en plaque. D'autre part, la même molécule a été testée avec efficacité dans le traitement du choc septique. Dans un essai clinique en phase II incluant environ 500 patients, l'utilisation de cette molécule hybride est capable de diminuer la mortalité de 35 %, 28 jours après le traitement, dans un sous-groupe de patients considérés comme atteints de « sepsis grave » (Anton Leighton, Nutley, USA). Ces résultats sont encourageants quant à l'issue d'un essai en phase III évaluant l'efficacité de la molécule sur un échantillon plus large, mais soulignent néanmoins, une fois de plus, l'intérêt de définir avec précision le sous-groupe de patients chez lesquels la thérapie peut être appliquée avec succès.

Transmission du signal par les récepteurs du TNF

Le deuxième grand axe de recherche dont les résultats ont été discutés durant le congrès de Rhodes concerne les mécanismes par lesquels les récepteurs du TNF sont capables de transduire un signal qui pourra conduire à la modulation des différents gènes impliqués dans la réponse inflammatoire ou bien à la lyse cellulaire par un mécanisme d'apoptose. On peut espérer que la compréhension de ces mécanismes de transduction constituera le point de départ vers l'identification de nouveaux médicaments et une

réorientation thérapeutique de la réponse cellulaire au TNF. Cette modulation de la réponse au TNF peut s'envisager sous deux aspects : soit en bloquant l'action cytolytique qui se manifeste lorsque la production de TNF devient trop forte au cours d'une réaction inflammatoire, comme c'est le cas lors d'un choc septique, par exemple ; soit, dans une perspective inverse, en utilisant des composés capables de bloquer spécifiquement l'activité pro-inflammatoire dans la voie de transduction du signal TNF, tout en conservant l'activité cytolytique. Celle-ci étant plus efficace sur des cellules cancéreuses que sur des cellules normales, une utilisation du TNF en cancérologie pourrait être envisagée de façon beaucoup plus large qu'aujourd'hui.

Cette étude des mécanismes de transduction des signaux induits par le TNF a fait l'objet d'un très grand nombre de développements récents. Lors du dernier congrès sur le TNF, à Monterey en 1994, seulement deux molécules capables de lier le domaine cytoplasmique du récepteur TNF de type II étaient identifiées. La fonction de ces molécules, nommées TRAF-1 et 2 *(TNF receptor associated factor)*, était alors inconnue. Depuis, de nombreuses autres protéines impliquées dans la transduction du signal TNF ont pu être caractérisées grâce au clonage de leurs gènes, principalement grâce à la technique de « double hybride » chez la levure [12]. Et pour certaines d'entre elles, leur implication dans le mécanisme physiologique de transmission du signal est d'ores et déjà démontrée *(figure 2)*.

Tout d'abord, l'équipe de David Goeddel (San Francisco, USA) a isolé une protéine de 34 kDa qui lie spécifiquement le domaine cytoplasmique du récepteur TNF de type I dans une région appelée le *death domain*, dont il a été démontré qu'il est nécessaire et suffisant pour permettre au récepteur TNF activé de transmettre les signaux conduisant à la mort cellulaire. Cette équipe a pu montrer que la surexpression de cette protéine de 34 kDa, appelée TRADD *(TNF receptor associated death domain)*, induit la mort cellulaire, ce qui confirme son rôle physiologique dans le mécanisme d'apoptose relayé par le TNF *(m/s n° 6, vol. 11, p. 1178)* [13]. Des recherches plus approfondies sur TRADD ont ensuite permis de montrer qu'elle joue un rôle d'adaptateur moléculaire et est capable d'orienter le signal transmis par le récepteur TNF de type I [14]. En effet, il semble que TRADD intervient dans l'induction de l'apoptose en interagissant avec une autre protéine, appelée FADD [15], et en facilitant ainsi sa liaison au récepteur TNF de type I au niveau du *death domain (m/s n° 4, vol. 12, p. 541)*. Dans d'autres conditions, la protéine TRADD serait capable de recruter sur le *death domain* du récepteur de type I une autre protéine, TRAF-2. Dans ce cas, la réponse physiologique serait différente : les cellules n'entreraient pas en apoptose, mais elles subiraient une activation du facteur de transcription NF-κB [16]. Celui-ci étant impliqué dans l'activation de nombreux gènes de la phase aiguë de l'inflammation, son activation peut être considérée comme un marqueur de l'activité pro-inflammatoire de la cellule *(m/s n° 4, vol. 11, p. 642)*. Enfin, TRADD influence la liaison d'une troisième molécule sur le *death domain* du récepteur TNF de type I : la protéine RIP. Cette protéine, qui possède une activité de tyrosine kinase, est quant à elle capable d'induire les deux types de réponses, à savoir l'induction de l'apoptose et l'activation de NF-κB [17].

Les différents mécanismes activés par ces complexes protéiques sont très peu connus à ce jour. Un pas décisif semble cependant avoir été franchi par l'équipe de David Wallach (Rehovot, Israël), qui a identifié une nouvelle protéine impliquée dans le mécanisme d'induction de l'apoptose. Cette protéine, baptisée MACH-α et isolée grâce à sa capacité de se fixer la protéine FADD, induit l'apoptose lorsqu'elle est surexprimée dans les cellules. L'étude de son activité enzymatique a permis de montrer que MACH-α est une protéase appartenant à la famille ICE *(m/s n° 12, vol. 11, p. 1758)* [18]. Les protéines cibles subissant un clivage catalysé par MACH-α ne sont pas encore connues. Néanmoins, il est possible d'imaginer un rôle direct de MACH-α dans l'induction de la mort cellulaire par clivage de substrats vitaux ou par activation protéolytique d'autres enzymes impliquées dans l'induction de la mort cellulaire.

Ces travaux sur la transduction du signal par le récepteur TNF de type I viennent d'être récemment complétés par l'équipe de Martin Krönke (Kiel, Allemagne), qui a mis en évidence une deuxième région importante dans le domaine cytoplasmique du récepteur de type I. Cette région, baptisée NSD *(neutral sphingomyelinase activation domain)*, est capable de lier spécifiquement la protéine FAN *(factor associated with N-sphingomyelinase activation)* et conduit à l'activation de NF-κB par une cascade d'activation impliquant l'enzyme sphingomyélinase neutre *(m/s n° 3, vol. 9, p. 339)* et indépendante des voies activées par les protéines liant le *death domain* [19]. Le rôle physiologique de cette redondance de signaux conduisant à l'activation de NF-κB n'est pour l'instant pas connu. Il est cependant possible d'imaginer que, en plus de l'activation de NF-κB, les deux voies de transduction passant par le *death domain* et par NSD soient capables d'activer d'autres cibles distinctes.

En conclusion

Les travaux futurs devraient dévoiler les chaînons manquants dans ces différents mécanismes de transduction, définissant ainsi un large choix de molécules cibles dont l'activité pourrait être modulée afin de contrôler la production de TNF. L'équipe de Walter Fiers a récemment ouvert la voie à ce type d'approche en montrant que le composé SB203580 peut bloquer la production de cytokines inflammatoires en réponse au TNF, mais n'affecte pas la cytotoxicité induite par le TNF sur des cellules murines.

Ces résultats prometteurs redonnent espoir dans l'utilisation du TNF en thérapie anticancéreuse, mais d'autres questions sur les risques d'utilisation thérapeutique de ce composé restent posées. On peut notamment se demander si l'activité stimulatrice du TNF sur l'angiogenèse ne constituerait pas un obstacle

à ce type de traitement en favorisant le développement de métastases.
Le 7e congrès sur le TNF, qui se déroulera à New Haven (USA) en 1998, devrait apporter une partie des réponses à ces questions ■

Remerciements

Nous remercions le Dr Véronique Kruys pour la relecture du manuscrit.

Cyril Gueydan

Laboratoire de chimie biologique, département de biologie moléculaire, Université Libre de Bruxelles, 67, rue des Chevaux, B-1640 Rhode-St-Genèse, Belgique.

Elise Coessens

Médiascience International 9, rue du Beau-Site, B-1000 Bruxelles, Belgique.

TIRÉS À PART

C. Gueydan.

RÉFÉRENCES

1. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984; 312: 724-9.

2. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 1985; 161: 984-95.

3. Beutler B, Milsark IW, Cerami AC. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 1985; 229: 869-71.

4. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985; 316: 552-4.

5. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 1988; 53: 45-53.

6. Grell M, Douni E, Wajant H, Lohden M, Clauss M, Maxeiner B, Georgopoulos S, Lesslauer W, Kollias G, Pfizenmaier K, *et al.* The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995; 83: 793-802.

7. Lee JC, Laydon JT, McDonnell PC, Gallagher TF, Kumar S, Green D, McNulty D, Blumenthal MJ, Heys JR, Landvatter SW, *et al.* A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* 1994; 372: 739-46.

8. Beyaert R, Cuenda A, Vanden Berghe W, Plaisance S, Lee JC, Haegeman G, Cohen P, Fiers W. The p38/RK mitogen-activated protein kinase pathway regulates interleukin-6 synthesis in response to tumor necrosis factor. *EMBO J* 1996; 15: 1914-23.

9. Wride MA, Sanders EJ. Potential roles for tumour necrosis factor alpha during embryonic development. *Anat Embryol Berl* 1995; 191: 1-10.

10. MacDermott RP, Lichtenstein GR, Izutani R, Muraki T. Anomalies du système immunitaire de la muqueuse au cours des maladies inflammatoires de l'intestin. *Med Sci* 1993; 9: 853-9.

11. Goldmann M, Velu T. L'interleukine-10, une nouvelle cytokine immunosuppressive et anti-inflammatoire. *Med Sci* 1993; 9: 453-5.

12. Plessis A, Camonis JH. Le système double-hybride, mode d'emploi. *Med Sci* 1994; 10: I-IX.

13. Hsu H, Xiong J, Goeddel DV. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF-kappa B activation. *Cell* 1995; 81: 495-504.

14. Hsu H, Shu HB, Pan MG, Goeddel DV. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell* 1996; 84: 299-308.

15. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, Dixit VM. FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell* 1995; 81: 505-12.

16. Israël A. Les protéines Rel/NF-kB et IκB : nouvelles données sur la structure, la fonction et la régulation. *Med Sci* 1995; 11: 1017-20.

17. Hsu H, Huang J, Shu HB, Baichwal V, Goeddel DV. TNF dependent recruitment of the protein kinase RIP to the TNF receptor-1 signaling complex. *Immunity* 1996; 4: 387-96.

18. Boldin M, Goncharov TM, Goltsev YV, Wallach D. Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in FAS/APO-1 and TNF receptor-induced cell death. *Cell* 1996; 85: 803-15.

19. Adam-Klages S, Adam D, Wiegman K, Struve S, Kolanus W, Schneider-Mergener J, Kronke M. FAN, a novel WD-repeat protein, couples the p55 TNF-receptor to neutral sphingomyelinase. *Cell* 1996; 86: 937-47.